ENDEXT® Technology

Premium PLUS Kit

取扱説明書

ver.1.00

(Catalog No. EDX-PLUS)

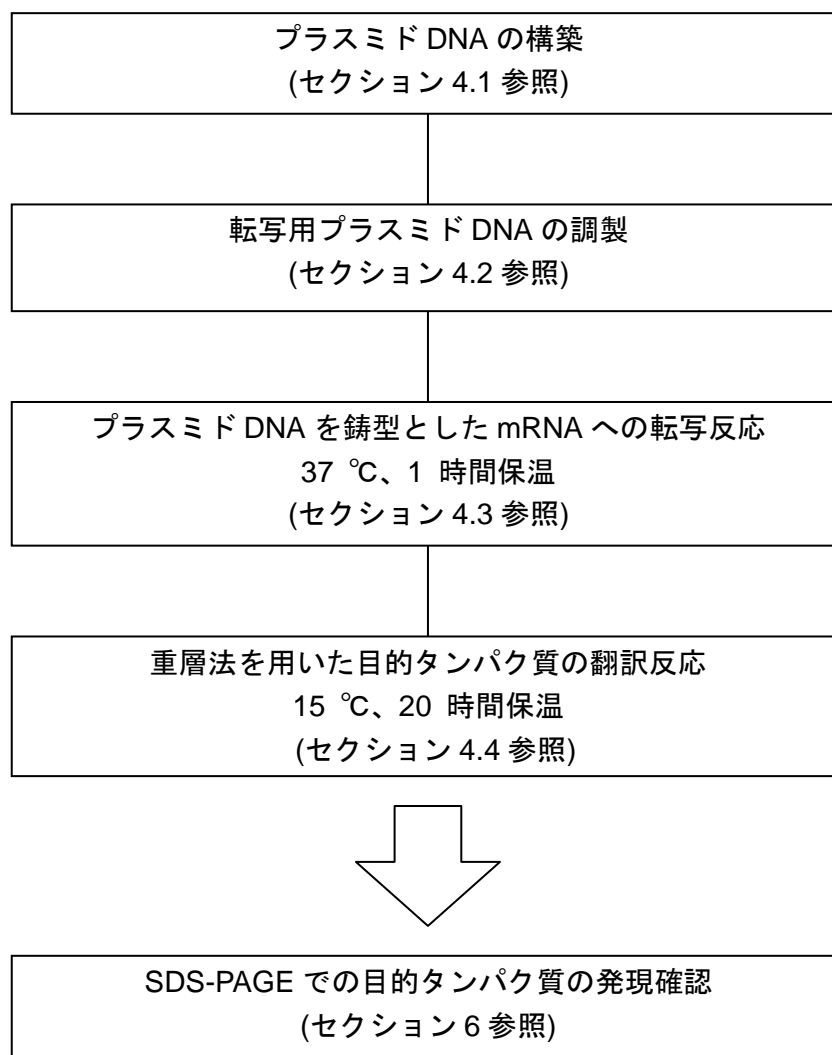
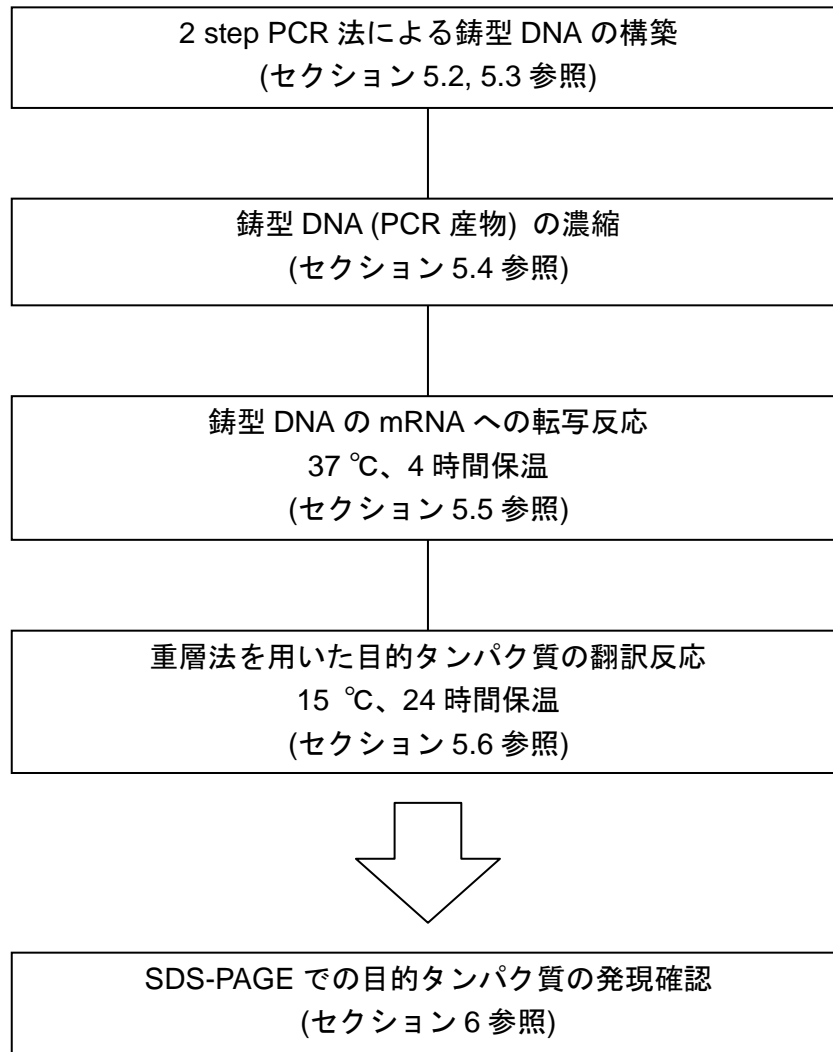
株式会社セルフリーサイエンス

目次

1. 本キットについて

“Premium PLUS Kit” は、従来の “Premium Expression Kit” と比較し、約 2 倍のタンパク合成量を得ることができます。タンパク合成に必要な鋳型 DNA は plasmid DNA 及び PCR product 両方を使用することが出来ます。 (但し PCR product を使用した場合、plasmid と比べてタンパク合成量が約 10〜30% 低下します。)

2. プロトコルの概要

2.1. プラスミド DNA を使用したタンパク質合成

2.2. PCR 産物を使用したタンパク質合成

3. キットおよび必要試薬

3.1. キットの保存条件

全ての試薬は－80 ℃以下で保存して下さい。

3.2. キットの内容

このキットには 8 反応分のタンパク発現用試薬が含まれています。

試薬	容器の形状と色	内包数	量	説明
pEU-E01-MCS	0.2 ml PCR Tube, 赤	1	5.0 µl (1.0 µg/µl)	目的遺伝子を挿入し、サブクローニングする為の発現用ベクターです。詳細はセクション 4.1 をご参照下さい。
pEU-E01-DHFR	0.2 ml PCR Tube, 緑	1	5.0 µl (1.0 µg/µl)	大腸菌由来の DHFR (Dihydrofolate Reductase) 発現用ベクターです。ポジティブコントロールとしてご使用下さい。
SPU	0.2 ml PCR Tube, 橙	1	100 µl (1 µM)	2nd PCR に使用するセンスプライマーです。詳細はセクション 5.3.2 をご参照下さい。
deSP6E01	0.2 ml PCR Tube, 紫	1	100 µl (10 nM)	2nd PCR に使用するセンスプライマーです。詳細はセクション 5.3.2 をご参照下さい。
Transcription Premix*	0.2 ml PCR Tube, 青	8	18 µl	転写反応用のプレミックス試薬です。
WEPRO®9240*	0.2 ml PCR Tube, 黄	8	10 µl	翻訳反応用の小麦胚芽抽出液です。
SUB-AMIX® SGC*	Single-break strip well, 透明	8	206 µl	翻訳反応用バッファーです。
アルミシール		2		翻訳反応中のウェルのカバーとしてご使用下さい。セクション 4.4 またはセクション 5.6 をご参照下さい。

* 1 反応に各チューブ内の試薬全量を用いて下さい。

3.3. キット以外に必要な試薬

3.3.1. プラスミド DNA の調製に必要な試薬

(詳細はセクション 4.2 をご参照下さい。)

試薬名	説明
フェノール/クロロホルム	フェノール:クロロホルム:イソアミルアルコール = 25:24:1, pH 7.9
クロロホルム	> 99%クロロホルム
エタノール	> 99%エタノールおよび 70%エタノール
酢酸ナトリウム	3 M, pH 5.2
TE バッファー	10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8.0. Sterilized. TE バッファーを調製する際は、必ず DNase-RNase free water をご使用下さい。自家製の DEPC 処理水は推奨しません。

3.3.2. PCR による鋳型 DNA の調製に必要な試薬

(詳細はセクション 5.2 をご参照下さい。)

試薬名	説明
gene specific primer (1st PCR 用センスプライマー)	目的遺伝子に適した配列を設計して頂く必要があります。 詳細はセクション 5.2.2 をご参照下さい。
antisense primer (1st PCR、2nd PCR 共用)	遺伝子クローニングに使用したベクターに適した配列を設計して頂く必要があります。詳細はセクション 5.2.2 をご参照下さい。
PCR 用試薬	PCR に必要な DNA Polymerase, Buffer, dNTP,が必要となります。本書ではタカラバイオ社の *ExTaq*® (*) を例として記載しています。
エタノール	> 99%エタノールおよび 70%エタノール
酢酸ナトリウム	3 M, pH 5.2
Nuclease-free water	DNase, RNase free。自家製の DEPC 処理水は推奨しません。

* *ExTaq*®はタカラバイオ社の登録商標です。

4. プラスミド DNA を使用したタンパク質合成プロトコル

4.1. プラスミド DNA の構築

1) pEU-E01-MCS ベクターのマルチクローニングサイトに、目的タンパク質をコードする cDNA を以下のベクター情報を参考に適切な制限酵素を選択して挿入して下さい (*1, 2) 。 pEU-E01-MCS ベクターは、7 ページの図の様に SP6 プロモーター、E01 翻訳促進配列、アンピシリン耐性遺伝子を持っています。
2) cDNA を挿入した pEU-E01-MCS ベクターを大腸菌にトランスフォームし、培養して下さい。
3) 市販品のキット (例; QIAGEN 社製品) を使用して、大腸菌からプラスミド DNA の抽出と精製を行って下さい。QIAGEN 社製品を用いる場合、Plasmid Midi Kit あるいは Plasmid Maxi Kit の使用を推奨します。いわゆる用手法でのミニプレップ法による精製は推奨しません。
4) 精製したプラスミド DNA の濃度と純度を、吸収波長 260 nm および 280 nm での吸光度を測定し確認してください。吸収波長 260 nm での吸光度からプラスミド DNA 濃度を、吸収波長 260 nm/280 nm の比からプラスミド DNA の純度を算出してください (*3) 。
5) TE バッファーを適量加えて、プラスミド DNA 濃度が 1.0 μg/μl になるよう調整してください (*4) 。

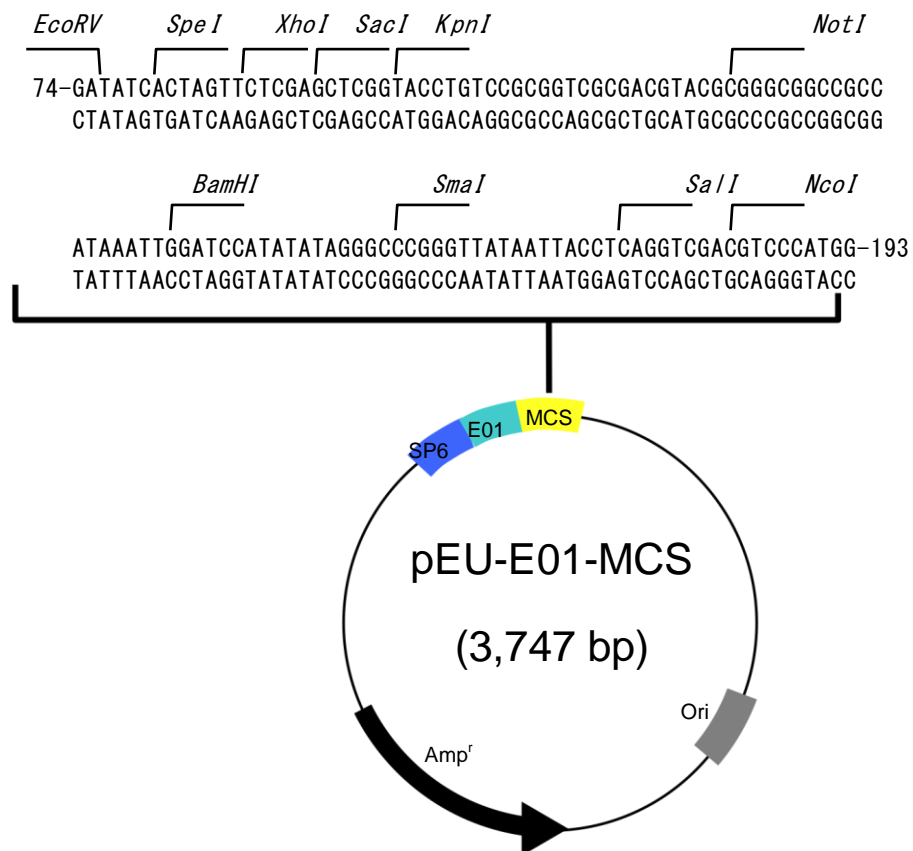
（備考）

*1 タンパク発現効率を上げるため、制限酵素サイトは出来るだけ E01 翻訳促進配列 (Translational enhancer) に近い部位を選択して下さい。

*2 セルフライゲーションが起きやすいので *Xho* I サイトだけでの挿入はお勧めしません。*Xho* I を使用される場合は、他の制限酵素と組み合わせて下さい。

*3 必要なプラスミド DNA の純度:
吸収波長 260 nm/280 nm の比の範囲が 1.70～1.85 の間になるようにして下さい。比が推奨値から外れると、プラスミド DNA がコンタミしている可能性があります。その場合、セクション 4.2 に記載されている操作を行い、プラスミド DNA をさらに精製してください。

*4 プラスミド DNA の濃度が 1.0 μg/μl +/- 0.05 μg/μl の範囲になるよう調整してください。

(Multiple cloning site information)

pEU-E01-MCS sequence

SP6 promoter: -17~1

Translational enhancer (E01):16~72

Multiple Cloning Site: 74~193

Origin: 1190~1830

Ampicillin resistance gene: 1974~2838

ポジション1はSP6プロモーター配列の最後のGに位置します。 (以下の配列中の下線) :
ATTTAGGTGACACTATA<u>G</u>

4.2. 転写用プラスミド DNA の調製 (オプション)

タンパク質の発現には、高純度のプラスミド DNA が必要です。市販品の DNA 精製キットで調整したプラスミド DNA の純度 (*1) が低かった場合および、転写反応後の転写産物をアガロースゲル電気泳動した際に 500 bp よりも小さな分子サイズの位置にスメアないしラダーパターン (セクション 4.3.1 をご参照ください) が確認された場合には、以下の手順でフェノール/クロロホルム精製、クロロホルム精製、エタノール沈殿法を行い、プラスミド DNA の精製を行って下さい。

1) 抽出したプラスミド DNA 溶液 (セクション 4.1 を参照) に等量のフェノール/クロロホルム (フェノール : クロロホルム : イソアミルアルコール＝25 : 24 : 1、pH 7.9) を加え、よく混ぜる。
2) 15,000 rpm で 5 分間遠心する。
3) 新しいチューブに上層液 (プラスミド DNA 溶液) を移す。
4) 3) のチューブにプラスミド DNA 溶液と等量のクロロホルムを加え、よく混ぜる。
5) 15,000 rpm で 5 分間遠心する。
6) 新しいチューブに上層液 (プラスミド DNA 溶液) を移す。
7) 6) のチューブにプラスミド DNA 溶液の 2.5 倍量の 100%エタノールと 1/10 倍量 の 3 M 酢酸ナトリウム (pH 5.2) を加える。
8) -20℃で 10 分間静置する。
9) 15,000 rpm、4 ℃で 20 分間遠心する。
10) 上清を除いた後、70%エタノール 800 µl を加え DNA ペレットを洗浄する。
11) 15,000 rpm、4 ℃で 10 分間遠心する。
12) 上清を除く。
13) DNA ペレットを風乾させる (10～20 分) 。
14) DNA ペレットの量に応じて適量の TE バッファーを加えて溶解させる。
15) 分光光度計を使用して、DNA の紫外線波長 260 nm と 280 nm の吸光度を測定する。260 nm の吸光度より DNA の濃度を、260 nm と 280 nm の吸光度比より DNA の純度を算出する(*1)。
16) TE バッファーを適量加えて、DNA 濃度を 1.0 µg/µl に調整する (*2)。

(備考)

*1 必要なプラスミド DNA の純度:
吸収波長 260 nm/280 nm の比の範囲が 1.70～1.85 の間になるようにして下さい。比が推奨値から外れると、プラスミド DNA がコンタミしている可能性があります。その場合、再度セクション 4.2 の手順を繰り返して下さい。

*2 必要なプラスミドの DNA 濃度:
プラスミド DNA の濃度が 1.0 µg/µl +/- 0.05 µg/µl の範囲になるよう調整してください。

4.3. プラスミド DNA を鋳型とした mRNA への転写反応

ポジティブコントロールとして、pEU-E01-DHFR を使用し DHFR タンパクを発現させる事を推奨致します。

1) 必要数の Transcription Premix チューブ (青) を切り離し、氷上で試薬を溶かす。融解後、軽くスピンダウンし、チューブの内壁やキャップについた試薬をチューブの底に落とす (*1) 。
2) Transcription Premix チューブにプラスミド DNA 溶液 (1.0 μg/μl) を 2 μl 加え、静かにピペッティングする。
3) サーマルサイクラーまたは恒温槽を使用し、37 ℃で 1 時間反応させる (3) 。
4) 転写反応後、1 μl の転写産物をアガロースゲル電気泳動し、mRNA の合成を確認する (*3) 。

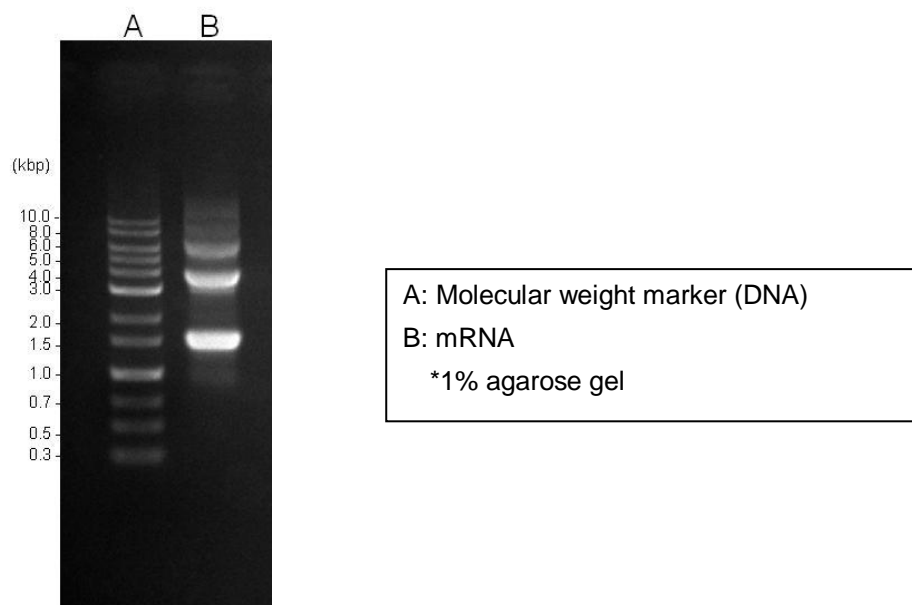
（備考）

*1 ハサミを使って Transcription Premix チューブを切り離す場合、チューブがはじき飛びやすいのでチューブをしっかり固定した状態で切り離して下さい。

*2 転写反応中に溶液が白濁することがありますが、ピロリン酸マグネシウムの合成によるものであり、転写産物自体に問題はありません。

*3 低分子量 (約 500 塩基以下) のスメア状バンドまたはラダー状バンドが検出される場合、RNase による mRNA の分解が考えられます。その場合、再度プラスミド DNA の調製を行ってください (セクション 4.2 をご参照ください) 。

正常な mRNA の電気泳動解析例

A: Molecular weight marker (DNA)
B: mRNA
*1% agarose gel

4.4. 重層法を用いた目的タンパク質の翻訳反応

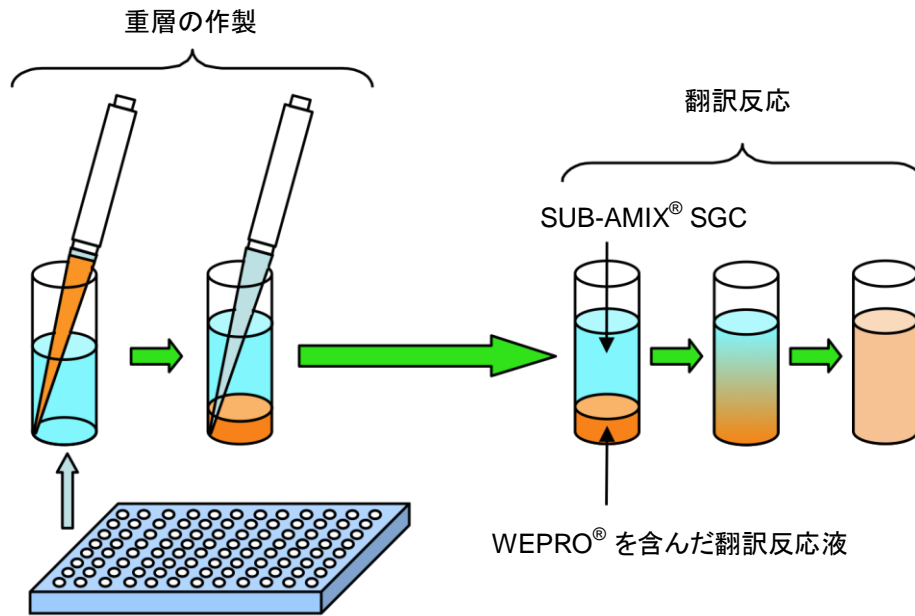
1) 必要数の WEPRO®9240 チューブ (黄) と SUB-AMIX® SGC 入りウェル (透明) を切り離し、氷上でそれぞれの試薬を溶かす。融解後、WEPRO®9240 チューブを軽くスピンダウンし、チューブの内壁やキャップについた試薬をチューブの底に落とす (過剰な遠心は避けること) 。SUB-AMIX® SGC はウェル内で静かにピペッティングして懸濁する (*1,2) 。
2) 転写反応液を室温まで下げ (氷上等、低温での保温は避けること) 、静かにピペッティングして懸濁する (*3) 。
3) 懸濁した転写反応液 10 µl を WEPRO®9240 チューブに加え、泡立てないよう静かにピペッティングする (この混合液を翻訳反応液とする) 。
4) **重層反応を行う。**
翻訳反応液全量を SUB-AMIX® SGC 入りウェルの底に注意深く入れ、重層を形成して下さい。11 ページのイラストのように、翻訳反応液が下層、SUB-AMIX® SGC が上層となります。ウェル内でこれらの試薬をピペッティング等で混ぜないで下さい (重要!!) 。
5) 蒸発を防ぐため、付属のアルミシールを使用してウェルを密封する(*4)。
6) 15 ℃で 20 時間保温する (*5) 。
7) 翻訳後、反応液を静かにピペッティングし、以降の実験に用いる。

（備考）

*1 ハサミを使って切り離す場合、チューブやウェルがはじき飛びやすいのでチューブやウェルをしっかり固定した状態で切り離して下さい。
*2 ウェルは倒れやすいので、取り扱いには十分注意して下さい。
*3 転写反応溶液中にピロリン酸マグネシウムの合成による白濁ができた場合、白濁ごと全体を懸濁してください。
*4 付属のアルミシールは適切な大きさに切って使用して下さい。
*5 必要時間以上に保温すると合成したタンパクの分解が起こる可能性があります。

CFS
CellFree Sciences

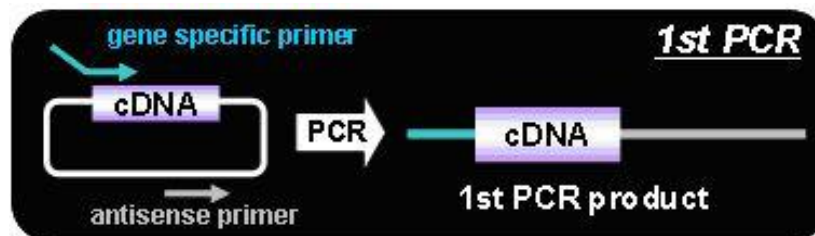
※ 重層法について

重層の作製
翻訳反応
SUB-AMIX® SGC
WEPRO® を含んだ翻訳反応液

5. PCR 産物を使用したタンパク質合成プロトコル

5.1. 注意点

1) 本プロトコルは、pEU-E01-MCS ベクター以外のベクターに挿入されている遺伝子を転写に用いるために、2 step PCR 法により遺伝子に SP6 プロモーター、E01 翻訳促進配列、3'-UTR 配列を付加する方法です。
2) タンパク質の種類により発現量および活性に差異が生じます。
3) 目的遺伝子が挿入されているベクターが pET-24 series または pET-28 series の場合、目的の PCR 産物が得られない事があります。またベクターには SP6 プロモーター配列がないことを確認して下さい。これらのベクターを使用している場合、他種のベクターに入れ替えて頂く事を推奨致します。
   本キットに付属している pEU-E01-DHFR ベクターは、翻訳時にポジティブコントロールとして使用するためのものです。PCR による転写鋳型調整に使用することはできません。
4) PCR 産物を鋳型とした場合はプラスミドベクターを用いた場合に比べてタンパク合成量が約 30% 低下する可能性があります。

5.2. 1st PCR

5.2.1. 1st PCR の概要

※遺伝子 (cDNA) の挿入方向が逆の場合、各 Primer の向きは逆になります。

5.2.2. 1st PCR 用プライマーの設計

プライマー	gene specific primer
長さ (bp)	約 35 塩基
配列	5'- ccacccaccaccaccaATGNNNNNNNNNNNNNNNN -3'
説明	小文字: 2nd PCR に使用するプライマー｢deSP6E01｣との “のりしろ” 配列 ATG: 開始コドン NNN: 目的の遺伝子配列に応じて 20 塩基程度で設計して下さい。

プライマー	antisense primer (1st PCR、2nd PCR 共用)
長さ (bp)	約 20 塩基
配列	目的遺伝子が挿入されているベクターの配列に由来
説明	目的遺伝子から 1.6 kb 以上離れた下流の領域に 20 塩基程度の長さで設計して下さい。2nd PCR にも使用します。

5.2.3. 1st PCR のプロトコル

1)　下記の組成で反応液を調製する。(0.2 ml PCR チューブ使用)

	1 sample (μl)	Final conc.
Template plasmid DNA (250 pg/μl)	2	25 pg/μl
10x *ExTaq*® Buffer	2	1x
2.5 mM dNTP	1.6	0.2 mM
100 nM gene specific primer	2	10 nM
100 nM antisense primer	2	10 nM
Nuclease-free water	10.35	-
TaKaRa *ExTaq*® (5 U/μl)	0.05 (*1)	0.0125 U/μl
Total	20	

2)　Thermal Cycler にチューブをセットし、以下の条件で反応させる。

°C	Time	
98	1 min	
98	10 sec	
55	1 min	35 cycles
72 (*2)	*x* min (*3)	
72 (*2)	*x* min (*3)	
20	∞	

3)　PCR 産物 2 μl をアガロースゲル電気泳動し､目的産物サイズのシングルバンドが検出される事を確認する（*4）。

（備考）

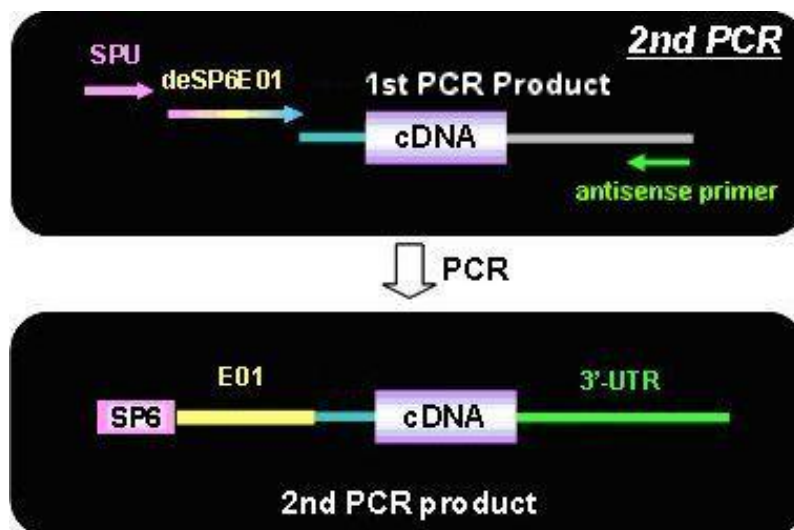
*1　酵素の添加量が少ない為、10 サンプル分程まとめて反応液を調製した後、1 サンプル分ずつに分注して下さい。

*2　使用される DNA polymerase に最適な伸長温度を設定して下さい。

*3　使用される DNA polymerase と PCR 産物の予想サイズに適した伸長時間を設定して下さい。

*4　PCR での増幅が確認出来ない場合でも、次のステップに進んで下さい。2nd PCR により目的配列が増幅される可能性があります。

5.3. 2nd PCR

5.3.1. 2nd PCR の概要

5.3.2. 2nd PCR 用プライマーについて

※ antisense primer には 1st PCR で使用した antisense primer を使用します。
詳細はセクション 5.2.2 をご参照下さい。
※ sense primer はキットに同梱の SPU と deSP6E01 の 2 種類を使用します。

プライマー	SPU
長さ (bp)	21 塩基
配列	5'- GCGTAGCatttaggtgacact -3'
説明	小文字: SP6 promoter 配列の 5' 側部分

プライマー	deSP6E01
長さ (bp)	100 塩基
配列	5'-ggtgacactatag*AACTCACCTATCTCCCCAACACCTAATAACATTCA ATCACTCTTTCCACTAACCACCTATCTACATCA***CCACCCACCACC ACCA**ATG-3'
説明	小文字: SP6 promoter 配列の 3' 側部分 大文字斜体: E01 翻訳促進配列を含む配列 大文字太字: 1st PCR 産物との"のりしろ" 配列 ATG: 開始コドン

5.3.3. 2nd PCR のプロトコル

1) 下記の組成で反応液を調製する。(0.2 ml PCR チューブ使用)

	1 sample (µl)	Final conc.
1st PCR product	5	1/10 vol.
10x *ExTaq*® Buffer	5	1x
2.5 mM dNTP	4	0.2 mM
1 µM SPU	5	100 nM
10 nM deSP6E01	5	1 nM
1 µM antisense primer	5	100 nM
Nuclease-free water	20.875	-
TaKaRa *ExTaq*® (5 U/µl)	0.125 (*1)	0.0125 U/µl
Total	50	

2) Thermal Cycler にチューブをセットし、以下の条件で反応させる。

°C	Time	
98	1 min	
98	10 sec	5 cycles
55	1 min	5 cycles
72 (*2)	*x* min (*3)	5 cycles
98	10sec	35 cycles
60	40sec	35 cycles
72 (*2)	*x* min (*3)	35 cycles
72 (*2)	*x* min (*3)	
20	∞	

3) PCR 産物 2 µl をアガロースゲル電気泳動し、目的産物サイズのシングルバンドが検出される事を確認する。

（備考）

*1 酵素の添加量が少ない為、4 サンプル分程まとめて反応液を調製した後、1 サンプル分ずつに分注して下さい。

*2 使用される DNA polymerase に最適な伸長温度を設定して下さい。

*3 使用される DNA polymerase と PCR 産物の予想サイズに適した伸長時間を設定して下さい。

5.4. PCR 産物の濃縮

1) 2nd PCR 産物溶液全量を 1.5 ml チューブに移す。
2) 2nd PCR 産物溶液量の 2.5 倍量の 100%エタノールと 1/10 倍量の 3 M 酢酸ナトリウム (pH 5.2) を加える (*1) 。
3) -20 ℃で 10 分間静置する。
4) 15,000 rpm、15 分間、4 ℃で遠心し、上澄みを除去する。
5) 70%エタノール 300 µl を加える。
6) 15,000 rpm、5 分間、4 ℃で遠心し、上澄みを除去する。
7) ペレットを 15 分間風乾させる (*2) 。
8) エタノール沈殿に使用した 2nd PCR 産物の 1/10 量の Nuclease-free water を加え、10 分間静置する。
9) ピペッティングをし、ペレットを溶解する。濃縮された DNA 2 µl が転写反応に必要です。

（備考）

*1 PCR 産物は希釈せずに濃縮操作に用いて下さい。

*2 DNA ペレットは乾燥させすぎないように注意して下さい。

5.5. PCR 産物を鋳型とした mRNA への転写反応

ポジティブコントロールとして、pEU-E01-DHFR ベクターを使用し DHFR タンパクを発現させる事を推奨致します。

1) 必要数の Transcription Premix チューブ (青) を切り離し、氷上で試薬を溶かす。融解後、軽くスピンダウンし、チューブの内壁やキャップについた試薬をチューブの底に落とす (*1) 。
2) Transcription Premix チューブに鋳型 DNA 溶液を 2 µl 加え、静かにピペッティングする (*2) 。
3) サーマルサイクラーまたは恒温槽を使用し、37°C で 4 時間反応をさせる (*3) 。
4) 転写反応後、1µl の転写産物をアガロースゲル電気泳動し、mRNA の合成を確認する (*4) 。

（備考）

*1 ハサミを使って Transcription Premix チューブを切り離す場合、チューブがはじき飛びやすいのでチューブをしっかり固定した状態で切り離して下さい。

*2 pEU-E01-DHFR ベクター (1.0 µg/µl) を使用する場合も同様に 2 µl 加えて下さい。

*3 転写反応中に溶液が白濁することがありますが、ピロリン酸マグネシウムの合成によるものであり、転写産物自体に問題はありません。

*4 スメア状バンドまたはラダー状バンドが検出される場合 (特に約 500 塩基以下の低分子量領域) 、RNase による mRNA の分解や、PCR 反応が正しく行われていない可能性があります。

5.6. 重層法を用いた目的タンパク質の翻訳反応

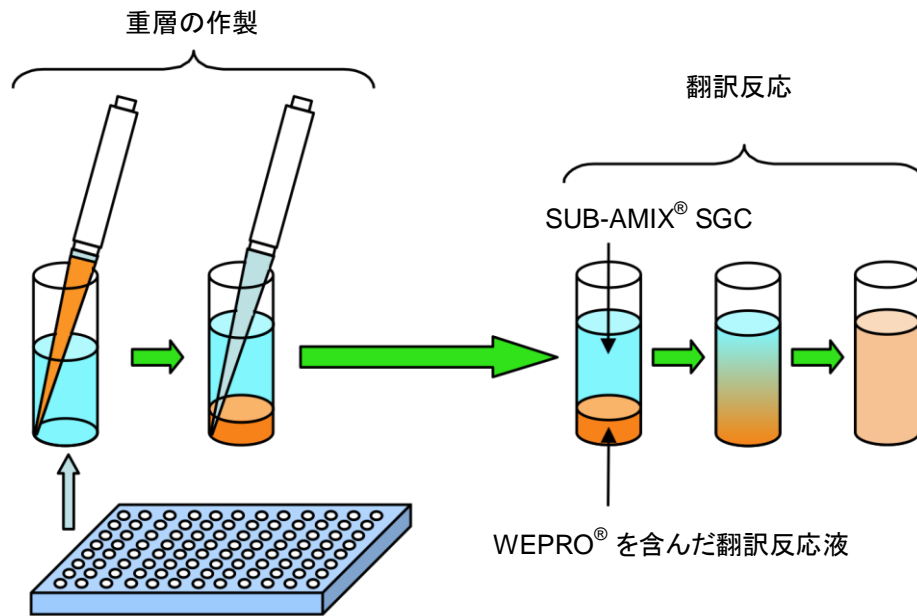
1) 必要数のWEPRO®9240チューブ（黄）とSUB-AMIX® SGC入りウェル（透明）を切り離し、氷上でそれぞれの試薬を溶かす。融解後、WEPRO®9240 チューブを軽くスピンダウンし、チューブの内壁やキャップについた試薬をチューブの底に落とす(過剰な遠心は避けること）。SUB-AMIX® SGCはウェル内で静かにピペッティングして懸濁する（*1,2）。
2) 転写反応液を室温まで下げ（氷上等、低温での保温は避けること）、静かにピペッティングして懸濁する（*3）。
3) 懸濁した転写反応液 10 μl を WEPRO®9240 チューブに加え、泡立てないよう静かにピペッティングして懸濁する（この混合液を翻訳反応液とする）。
4) **重層反応を行う。**
   翻訳反応液全量を SUB-AMIX® SGC 入りウェルの底に注意深く入れ、重層を形成して下さい。20 ページのイラストのように、翻訳反応液が下層、SUB-AMIX® SGCが上層となります。ウェル内でこれらの試薬をピペッティング等で混ぜないで下さい（重要!!）。
5) 蒸発を防ぐため、付属のアルミシールを使用してウェルを密封する（*4）。
6) 15 °C で 24 時間保温する（*5）。
7) 翻訳後、反応液を静かにピペッティングし、以降の実験に用いる。

（備考）

*1 ハサミを使って切り離す場合、チューブやウェルがはじき飛びやすいのでチューブやウェルをしっかり固定した状態で切り離して下さい。
*2 ウェルは倒れやすいので取り扱いには十分注意して下さい。
*3 転写反応溶液中にピロリン酸マグネシウムの合成による白濁ができた場合、白濁ごと全体を懸濁してください。
*4 付属のアルミシールは適切な大きさに切って使用して下さい。
*5 必要時間以上に保温すると合成したタンパクの分解が起こる可能性があります。

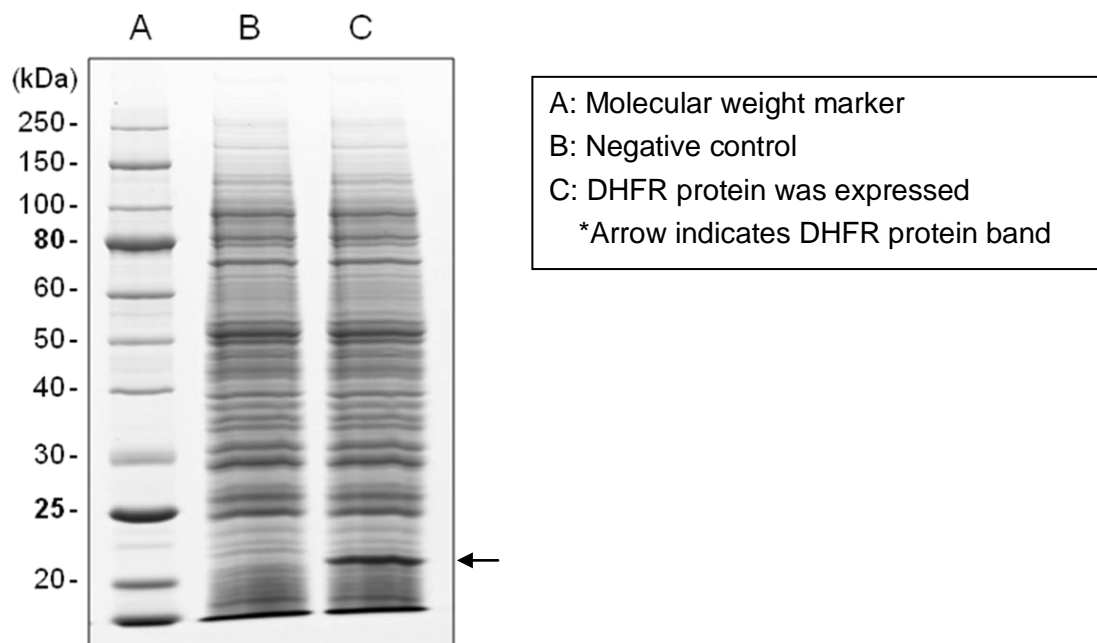
CFS
CellFree Sciences

※ 重層法について

重層の作製
翻訳反応
SUB-AMIX® SGC
WEPRO® を含んだ翻訳反応液

6. SDS-PAGE での目的タンパク質の発現確認

発現した目的タンパクの確認は SDS-PAGE と CBB 染色にて行って下さい。小麦胚芽由来のバックグラウンドタンパクと目的タンパクを明確に区別する為に、高分解能かつ適切な濃度のポリアクリルアミドゲルをご使用下さい。通常、1 サンプルあたり 3 μl を用いれば目的タンパクのバンドを確認できますが、結果に応じてサンプル量を増減させ再度泳動を実施して下さい。以下の解析例で示されているように、ポジティブコントロールとして使用する DHFR は約 20 kDa のタンパクとして発現されます。

解析例

A: Molecular weight marker
B: Negative control
C: DHFR protein was expressed
*Arrow indicates DHFR protein band

7. その他

7.1. ラベルライセンスポリシー

Premium PLUS Kit をご購入のお客様は､セクション 3.2 にリストされている試薬のうち､いずれか 1 つの容器キャップを開封した時点で以下のラベルライセンスポリシーの条件を遵守する事に同意したものといたします。

<< ラベルライセンスポリシー>>
ENDEXT®テクノロジーおよび本テクノロジーを使った製品は､重層法､WEPRO®､ベクターに関する、日本、米国その他の国において出願中または登録された特許（米国特許 6869774、米国特許 6905843 など）により保護されております。

お客様は、製品、製品の内容物を、お客様の監督のもとで研究目的に使うことができる権利を有します。この権利は譲渡できません。お客様は、製品、製品の内容物およびこれらを使うことにより得られた物質について、第三者に譲渡、販売
したり、商業目的で使ったりすることはできません。
また、お客様は、製品の使用を通じて得られた情報や物質については、これを 1)いかなる第三者にも譲渡しないこと、および 2)譲渡された情報や物質は研究目的のみに使用し商業目的には使用しないこと、を承知した共同研究者にかぎって提供することができます。

研究以外の目的における製品ライセンスの購入に関しましては、株式会社セルフリーサイエンスの知的財産室までご連絡下さい。

7.2. 商標

ENDEX®、WEPRO®、SUB-AMIX® は株式会社セルフリーサイエンスの登録商標です。

7.3. その他

製品の仕様は、事前の予告なしに変更される場合があります。

連絡先

技術サポート/　E-mail: tech-sales-JP@cfsciences.com

株式会社　セルフリーサイエンス
〒230-0046
神奈川県横浜市鶴見区小野町 75-1
リーディングベンチャープラザ 201 号
TEL：045-500-2119
FAX：045-500-2117
Web site: http://www.cfsciences.com

参考文献

Y. Endo and T. Sawasaki (2004).　High-throughput, genome-scale protein production method based on the wheat germ cell-free expression system.　*J. Struct. Funct. Genomics* **5**, 45-57.

T. Sawasaki, T. Ogasawara, R. Morishita and Y. Endo (2002).　A cell-free protein synthesis system for high-throughput proteomics.　*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 14652-14657.

T. Sawasaki, Y. Hasegawa, M. Tsuchimochi, N. Kamura, T. Ogasawara and Y. Endo (2002). A bilayer cell-free protein synthesis system for high-throughput screening of gene products. *FEBS Lett.* **514**, 102-105.

K. Madin, T. Sawasaki, T. Ogasawara and Y. Endo (2000).　A highly efficient and robust cell-free protein synthesis system prepared from wheat embryos.　*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 559-564.

Premium PLUS Kit_J_ver.1.0, Oct 26, 2011.